

**PENGARUH EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP PENEKANAN
EKSPRESI PROTEIN *Bcl2*, PENINGKATAN EKSPRESI *p21*
DAN INDUKSI APOPTOSIS PADA KULTUR SEL
KANKER SERVIK (*HELA CELL LINE*)**

TESIS

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister
Program Studi Magister Kedokteran Keluarga
Minat Utama Ilmu Biomedik**



Oleh:

Tri Hadi Susanto

S501202070

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2016

**PENGARUH EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP PENEKANAN
EKSPRESI PROTEIN *Bcl2*, PENINGKATAN EKSPRESI p21
DAN INDUKSI APOPTOSIS PADA KULTUR SEL
KANKER SERVIK (*HELA CELL LINE*)**

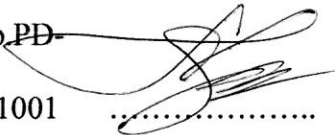
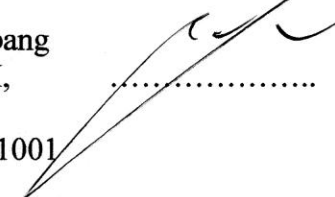
TESIS

Oleh

Tri Hadi Susanto

S501202070

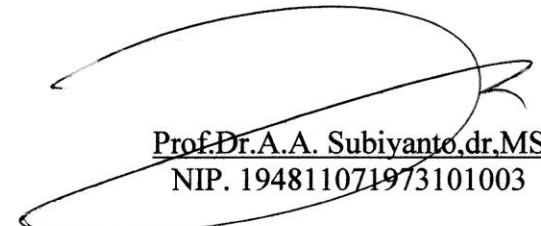
Telah disetujui oleh Tim Pembimbing

Komisi	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Pembimbing Pembimbing I	Suradi Maryono,dr, Sp.PD- KHOM, FINASIM NIP.194708121973101001		13 Oktober 2016
Pembimbing II	Prof.Dr.dr. H.M.Bambang Purwanto, SpPD,KGH, FINASIM NIP.194807191976091001		13 Oktober 2016

Telah dinyatakan memenuhi syarat

Pada tanggal 13 Oktober 2016

Ketua Program Studi Magister Kedokteran Keluarga
Program Pascasarjana UNS


Prof. Dr. A.A. Subiyanto, dr, MS
NIP. 194811071973101003

**PENGARUH EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP PENEKANAN
EKSPRESI PROTEIN *Bcl2*, PENINGKATAN EKSPRESI p21
DAN INDUKSI APOPTOSIS PADA KULTUR
SEL KANKER SERVIK
(HELA CELL LINE)**

TESIS



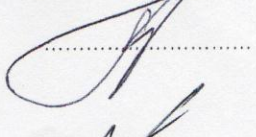
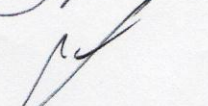
Oleh:

Tri Hadi Susanto

S 501202070

Telah disetujui oleh Tim Penguji

Komisi Penguji

Jabatan	Nama	Tanda Tangan	tanggal
Ketua	Dr. dr. Hari Wujoso, SpF, MM NIP. 196210221995031001	 Oktober 2016
Sekretaris Penguji	Dr. dr. Noer Rachma SpKFR NIP. 195506281983122001	 Oktober 2016
Anggota Penguji	dr. Suradi Maryono, SpPD-KHOM, FINASIM NIP. 194708121973101001	 Oktober 2016
	Prof. Dr. dr. HM Bambang Purwanto, Sp.PD-KGH, FINASIM NIP. 194807191976091001	 Oktober 2016

Telah dipertahankan didepan Penguji
Dinyatakan telah memenuhi syarat
Pada tanggal Oktober 2016

Mengetahui,

Direktur Program Pascasarjana

Kepala Program Studi Magister
Kedokteran Keluarga



Prof. Dr. M. Furqon Hidayatulloh, M.Pd
NIP. 196107171986011

Prof. Dr. dr. A. A Subiyanto, MS
NIP. 194811071973101003

PERNYATAAN KEASLIAN DAN PERSYARATAN PUBLIKASI

Penulis menyatakan dengan sebesar-besarnya bahwa:

1. Tesis yang berjudul “ Pengaruh Ekstrak Propolis Terhadap Penekanan Ekspresi Protein *Bcl2*, Peningkatan Ekspresi p21 Dan Induksi Apoptosis Pada Kultur Sel Kanker Servik (*Hela Cell Line*)” ini adalah karya penelitian penulis sendiri dan tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang tertulis dengan acuan yang disebutkan sumbernya, baik dalam naskah karangan dan daftar pustaka. Apabila ternyata di dalam naskah tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur - unsur plagiasi, maka penulis bersedia menerima sanksi, baik Tesis beserta gelar magister penulis dibatalkan serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.
2. Publikasi sebagian atau keseluruhan isi Tesis pada jurnal forum ilmiah harus menyertakan tim promotor sebagai *author* dan PPs UNS sebagai institusinya. Apabila penulis melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka penulis bersedia mendapatkan sanksi akademik yang berlaku.

Surakarta, Oktober 2016



Tri Hadi Susanto

S501202070

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillahirabbil'aalamin penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan kasih sayang, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan usulan tesis yang berjudul: Pengaruh Ekstrak Propolis Terhadap Penekanan Ekspresi Protein *Bcl2*, Peningkatan Ekspresi p21 Dan Induksi Apoptosis Pada Kultur Sel Kanker Servik (*Hela Cell Line*) ini dapat terselesaikan dengan baik. Penelitian ini untuk memenuhi sebagian persyaratan dalam memperoleh Gelar Spesialis Penyakit Dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis I Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus dan penghargaan yang tinggi kepada:

1. Prof. Dr. Ravik Karsidi, M.S., selaku Rektor Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan kemudahan penulis dalam melaksanakan pendidikan Pascasarjana Program studi Magister Kedokteran Keluarga minat utama Biomedik.
2. Prof. Dr. dr. Hartono, M.Si selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta, yang telah memberikan kemudahan dan dukungan kepada penulis selama menjalani pendidikan PPDS Ilmu Penyakit Dalam.
3. dr. Endang Agustinar, M.Kes sebagai Direktur RSUD Dr. Moewardi beserta seluruh jajaran staf direksi yang telah berkenan dan mengijinkan untuk menjalani program pendidikan PPDS interna.
4. dr . Suradi Maryono, SpPD, KHOM, FINASIM selaku Pembimbing I yang telah membimbing dan memberikan pengarahan dalam penyusunan tesis ini,serta memberikan kemudahan penulis dalam melaksanakan program pendidikan Pascasarjana dan PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.
5. Prof. Dr. dr. HM. Bambang Purwanto, SpPD, KGH, FINASIM selaku Pembimbing II dan Kepala Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK UNS/ RSUD Dr

Moewardi yang telah memberikan ijin, bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan usulan tesis ini,serta memberikan kemudahan penulis dalam melaksanakan program pendidikan Pascasarjana dan PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.

6. Drs. Sumardi, MM selaku pembimbing/ konsultan statistik penelitian, yang dengan kesabaran telah membimbing dan memberikan pengarahan dalam penyusunan usulan tesis.
7. Dr. dr. Hari Wujoso, SpF, MM selaku Penguji I, yang telah memberikan pengarahan, bimbingan dan koreksi dalam penyusunan tesis ini.
8. Dr. Noer Rachma, dr., Sp.KFR selaku Penguji II, yang telah memberikan pengarahan, bimbingan dan koreksi dalam penyusunan tesis ini.
9. Seluruh Staf Pengajar Ilmu Penyakit Dalam FK UNS/ RSUD Dr Moewardi Surakarta. Prof. Dr. dr. H A Guntur Hermawan SpPD KPTI FINASIM (alm), Prof.Dr.dr. Djoko Hardiman, SpPD KEMD FINASIM, dr. Suradi Maryono, SpPD KHOM FINASIM, dr. Sumarmi Soewoto SpPD KGER FINASIM, dr. Tatar Sumandjar, SpPD KPTI FINASIM, dr. Tantoro Harmono, SpPD KGEH FINASIM, dr. Tri Yuli Pramana SpPD KGEH FINASIM, dr. Supriyanto Kartodarsono, SpPD KEMD FINASIM, dr. Supriyanto Muktiatmojo, SpPDFINASIM, dr. Dhani Redhono, SpPD KPTI FINASIM, dr. Wachid Putranto, SpPD KGH FINASIM, dr. Arifin, SpPD KIC FINASIM, dr. Fatichati Budiningsih, SpPD KGer FINASIM, dr. Agung Susanto SpPD FINASIM, dr. Arief Nurudin SpPD FINASIM, dr. Agus Joko Susanto SpPD, FINASIM, dr. Yulyani Werdiningsih, SpPD FINASIM, dr.Sri Marwanta SpPD Mkes, dr.Aritantri D SpPD MSc, dr. Bayu Basuki Wijaya SpPD Mkes, dr.R. Satriyo SpPD Mkes, dr. Evi Nurhayatun SpPD Mkes, dr. Eva N SpPD Mkes, dr. Ratih Tri K SpPD, dr. Yudhi Hadjianto Sp.PD Mkes, dr. Agus Jati, Sp.PD, dr. Nurhasan Agung, SpPD Mkes, dr. Aryo Suseno, SpPD Mkes, dr Ratih Arianita, SpPD,Mkes yang telah memberi dorongan, bimbingan dan bantuan dalam segala bentuk sehingga penulis bisa menyelesaikan penyusunan tesis.

10. Ayahanda dan Ibunda tercinta Dr. H. Bambang Suseno, SKM,MM dan Ibu Hartati, SSi, Orang tua yang kami hormati dan sayangi Bapak Drs. H. Imam Basuki, Msc, FSAI, AAIJ dan Ibu Sri Mulyati, SE, Istriku tercinta dr. Monna Octavia Rahmawaty, buah hatiku Akio Athayya Kimora, saudara kandung, saudara ipar yang telah memberikan kasih sayang dan semangat dengan sabar dan tulus memberikan dorongan moril dan materiil dalam penyelesaian tesis ini dan proses menjalani program pendidikan Pasca Sarjana dan PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.
11. Seluruh teman sejawat seperjuangan Residen Penyakit Dalam yang telah memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis dalam penelitian ini dan selama menjalani pendidikan.
12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, yang telah membantu penulis baik dalam menjalani pendidikan maupun dalam persiapan penelitian ini.

Penyusun menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan tesis ini masih banyak terdapat kekurangan, untuk itu penyusun mohon maaf dan sangat mengharapkan saran serta kritik dalam rangka perbaikan penulisan tesis ini.

Surakarta, Oktober 2016

Penyusun

Tri Hadi Susanto. S501202070. 2016. Pengaruh Ekstrak Propolis Terhadap Penekanan Ekspresi Protein Bcl2, Peningkatan Ekspresi p21 Dan Induksi Apoptosis Pada Kultur Sel Kanker Servik (*Hela Cell Line*). TESIS. Pembimbing I: dr. Suradi Maryono, SpPD-KHOM, FINASIM, Pembimbing II: Prof. Dr.dr.H. Bambang Purwanto, SpPD-KGH, FINASIM. Program Studi Kedokteran Keluarga, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret Surakarta

ABSTRAK

Latar Belakang

Kanker serviks merupakan penyebab kematian ketiga akibat kanker pada wanita di Dunia. Di Indonesia, kanker serviks merupakan penyebab kematian utama pada perempuan dalam tiga dasa warsa terakhir. Berbagai strategi terapi pengobatan kanker serviks dengan menggunakan terapi bedah, radioterapi, dan kemoterapi maupun kombinasi ketiganya relatif belum optimal. Perlunya pengobatan kanker yang aman, efektif dan selektif pada sel kanker inilah yang mendorong dilakukannya eksplorasi bahan alam yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai antikanker. Salah satu produk natural yang potensial untuk dikembangkan sebagai agen ko-kemoterapi adalah propolis. Pada berbagai penelitian *in vitro*, propolis berperan dalam menginduksi apoptois dan menghambat prolifersi pada berbagai jenis sel kanker.

Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh pemberian propolis yang berasal dari Kerjo, Karanganyar, Indonesia terhadap induksi proses apoptosis dan aktivitas antiproliferasi, terutama terkait dengan penekanan ekspresi protein Bcl 2 dan peningkatan aktivasi p21 pada kultur sel hela (*cell line* kanker servik).

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan *post test with control group design*. Penelitian dilakukan pada kultur sel hela (sel kanker servik) dengan pemberian propolis. Pengamatan ekspresi p21 dan ekspresi protein Bcl2 dilakukan dengan metode imunositokimia, sedangkan pengamatan induksi apoptosis dilakukan dengan *flowcytometry*. Analisis statistik menggunakan uji ANOVA, signifikan bila $p < 0,05$.

Hasil Penelitian

EEP cenderung menekan viabilitas sel hela dengan IC_{50} sebesar 70 $\mu\text{g/mL}$. EEP konsentrasi 35,70,140 $\mu\text{g/mL}$ mampu meningkatkan ekspresi p21 dan menekan ekspresi Bcl2 yang sebanding dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan. EEP konsentrasi 35,70,140 $\mu\text{g/mL}$ mampu menginduksi apoptosis sebanding dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan

Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol propolis mempunyai pengaruh terhadap penekanan ekspresi Bcl2, peningkatan ekspresi p21, dan induksi apoptosis pada kultur sel kanker servik (*Hela Cell Line*).

Kata kunci : Propolis, Bcl2, p21, Sel Hela

Tri Hadi Susanto. S501202070. 2016. Effect of Propolis Extract on Decreasing Ekspresion of Bcl-2 protein, Increasing Expression of P21, and Apoptosis In Cervik Cancer Cell Culture (Cell line *Hela*). THESIS. Supervisor I: dr. Suradi Maryono, SpPD-KHOM, FINASIM, Supervisor II: Prof. Dr.dr.H. Bambang Purwanto, SpPD-KGH, FINASIM. Master Program of Family Medicine focusing on Biomedical Sciences, Sebelas Maret University Surakarta.

ABSTRACT

Background

Cervical cancer is the third leading cause of death from cancer in women in the World. In Indonesia, cervical cancer is the leading cause of death in women in the last three decades. Various therapeutic strategies for cervical cancer treatment using surgical therapy, radiotherapy, and chemotherapy or a combination of these less favorable. The need for cancer treatments that are safe, effective and selectively in cancer cells is what encourages the exploration of natural ingredients that have the potential to be developed as antikanker. Salah a natural product with the potential to be developed as a co-agent chemotherapy is propolis. In various studies in vitro, propolis plays a role in inducing and inhibiting apoptois prolifersi on various types of cancer cells.

Objectives

This study aimed to determine the effect of propolis originating from Kerjo, Karanganyar, Indonesia to induction of apoptosis and anti-proliferation activities, mainly associated with suppression of protein expression of Bcl 2 and increased activation of p21 in cell culture hela (cervical cancer cell line).

Methods

This study is a laboratory experimental study using post test with control group design. The study was conducted on cell cultures hela (cervical cancer cells) by administering propolis. Observations expression of p21 and Bcl-2 protein expression was conducted using immunocytochemistry, whereas induction of apoptosis observations made by flowcytometry. Statistical analysis using ANOVA test, significant if $p < 0.05$.

Result

EEP tends to suppress hela cell viability with IC₅₀ of 70 mg / mL. EEP concentration of 35,70,140 µg / mL able to improve p21 expression and suppressing the expression of Bcl-2 which is proportional to the increase in concentration given. EEP concentration of 35,70,140 µg / mL was able to induce apoptosis in proportion to the increase in the concentration of a given

Conclusion

This study shows Ethanol extract of propolis have an influence on the expression of Bcl 2 suppression, increased expression of p21 and induction of apoptosis in cultured cervical cancer cells (HeLa Cell Line).

Keywords: EEP, cell line hela, p21, Bcl 2 protein

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
1. Tujuan umum	6
2. Tujuan khusus	6
D. Manfaat penelitian	6
1. Manfaat teoritis	6
2. Manfaat terapan	6
BAB II. LANDASAN TEORI.....	8
A. Tinjauan Pustaka	7
1. Kanker.....	7
2. Kanker Servik.....	9
3. Sel Hela.....	12
4. Siklus sel.....	13
5. Apoptosis.....	16
6. Protein Bcl2.....	22
7. P21.....	25
8. Propolis.....	26
a. Definisi Propolis.....	26
b. Kandungan Kimia Propolis.....	26
c. Pengaruh propolis Terhadap Proses Apoptosis Sel Kanker....	29
d. Pengaruh Propolis Terhadap Proliferasi Sel Kanker.....	30

e. Ekstraksi Propolis.....	32
B. Penelitian yang relevan	33
C. Kerangka Konseptual	35
D. Kerangka Konsep penelitian	37
E. Hipotesis Penelitian	38
BAB III. METODE PENELITIAN	39
A. Tempat dan Waktu	39
B. Jenis Penelitian	40
C. Subjek Penelitian dan Besar Sampel	40
D. Identifikasi Variabel	40
1. Variabel bebas	40
2. Variabel tergantung	40
E. Definisi Operasional	40
F. Bahan dan Alat penelitian	43
G. Alur Penelitian	46
H. Analisis Hasil	56
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	58
A. Hasil Penelitian.....	58
1. Uji sitotoksitas dengan MTT aasay.....	58
2. Pengamatan penekanan Ekspresi Bcl2.....	61
3. Pengamatan Aktivasi p21.....	65
4. Uji Induksi Apoptosis dengan Flowcytometry.....	69
B. Pembahasan	73
1. Aspek Ontologi	73
2. Aspek Epistemiologi	74
3. Aspek Aksiologi	78
4. Nilai Kebaharuan Penelitian	79
C. Keterbatasan Penelitian.....	80
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	81
DAFTAR PUSTAKA	82

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Siklus Sel.....	14
Gambar 2.	Ekspresi Cyclin.....	15
Gambar 3.	Jalur Apoptosis.....	19
Gambar 4.	Diagram Jalur P53.....	21
Gambar 5.	Kerangka Konseptual.....	35
Gambar 6.	Kerangka Konsep penelitian.....	37
Gambar 7.	Skema pengisian plat mikrokultur.....	49
Gambar 8.	Skema Pengisian Ekspresi Bcl2 dan P21.....	51
Gambar 9.	Alur Penelitian.....	55
Gambar 10.	Morfologi Sel Hela.....	58
Gambar 11	Pembentukan Kristal Formazan.....	59
Gambar 12.	Hasil Imunositokima ekspresi Bcl2.....	62
Gambar 13.	Grafik Presentase Ekspresi Bcl2.....	64
Gambar 14.	Hasil Imunositokima Ekspresi p21.....	66
Gambar 15.	Grafik Presentase Ekspresi p21.....	68
Gambar 16	Apoptosis Sel Hela Inkubasi 24 Jam.....	69
Gambar 17.	Hasil Flowcytometri.....	71
Gambar 18.	Nilai Kebaruan Penelitian	79

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Jadwal Penelitian.....	39
Tabel 2.	Persentase Viabilitas sel hela dan Nilai IC ₅₀	60
Tabel 3.	Persentase Ekspresi Bcl2.....	63
Tabel 4.	Persentase Ekspresi p21.....	68
Tabel 5.	Persentase apoptosis Sel Hela.....	72

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Absorbansi sel Hela dengan MTT assay
- Lampiran 2. Hasil Persentase viabilitas sel hela
- Lampiran 3. Analisis regresi linier IC50 EEP
- Lampiran 4. Hasil analisis statistik ekspresi Bcl2 dan p21
- Lampiran 5. Hasil Flowcytometry.
- Lampiran 6. Hasil analisis statistik apoptosis.
- Lampiran 7. Dokumentasi hasil penelitian.

DAFTAR SINGKATAN

WHO	: <i>World Health Organization</i>
NFkB	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
<i>Bcl</i>	: <i>B-cell lymphoma</i>
DNA	: <i>Deoksiribonukleat Acid</i>
RB	: <i>Retinoblastoma</i>
CDK	: <i>Cyclin dependent kinase</i>
CIN	: <i>Cromosomal Instability</i>
MIN	: <i>Microsatellite Instability</i>
MMR	: <i>Missmatch repair</i>
APC	: <i>Adenomatous Polyposis Coli</i>
DCC	: <i>Deleted in Colon Cancer</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothel Growth Factor</i>
EGFR	: <i>Endotheal Growth Factor Receptor</i>
COX2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
pGP	: <i>P-glikoprotein</i>
TNFR	: <i>Necrosis Factor Receptor</i>
TRADD	: <i>TNF receptor-associated death domain</i>
FADD	: <i>Fas-associated death domain</i>
DISC	: <i>Death-inducing singnalling complex</i>
PS	: <i>phosphatidyl serine</i>
CAPE	: <i>Caffeic Acid Phenethyl Ester</i>

EEP	: <i>Ekstrak etanol propolis</i>
NFAT	: <i>Nuclear factor of activated cells</i>
AP-1	: <i>Activator protein-1</i>